

Le diagnostic rapide de la diphtérie par la méthode de Manzullo

THESE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Médecine de Montpellier

le lundi 17 mai 1943

PAR

HENRY GALERNE

né le 15 février 1916, à Chambéry (Savoie)

ANCIEN MONITEUR DE MICROBIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER

ANCIEN EXTERNE DES HOPITAUX DE CLERMONT-FERRAND

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

*Examineurs
de la Thèse*

MM. LISBONNE, *prof., président.*
JANBON, *professeur.*
CARRÈRE, *agrégé.*
P. RIMBAUD, *agrégé.*

Assesseurs

IMPRIMERIE DE LA PRESSE
3, rue Jardin-Martel, 3
MONTPELLIER

1943

**LE DIAGNOSTIC RAPIDE DE LA DIPHTERIE
PAR LA METHODE DE MANZULLO**

Le diagnostic rapide de la diphtérie par la méthode de Manzullo

THESE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Médecine de Montpellier
le lundi 17 mai 1943

PAR

HENRY GALERNE

né le 15 février 1916, à Chambéry (Savoie)

ANCIEN MONITEUR DE MICROBIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER

ANCIEN EXTERNE DES HOPITAUX DE CLERMONT-FERRAND

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

<i>Examineurs de la Thèse</i>	{	MM. LISBONNE, <i>prof., président.</i>	{	<i>Assesseurs</i>
		JANBON, <i>professeur.</i>		
		CARRÈRE, <i>agrégé.</i>		
		P. RIMBAUD, <i>agrégé.</i>		

IMPRIMERIE DE LA PRESSE
3, rue Jardin-Martel, 3
MONTPELLIER

1943

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Chaires:

MM.

Anatomie	J. DELMAS.
Histologie	TURCHINI.
Physiologie	HEDON
Chimie biologique médicale et toxicologie	CRISTOL
Physique médicale	PECH
Anatomie pathologique et médecine expérimentale	BAUMEL
Microbiologie	LISBONNE
Pathologie et thérapeutiques générales	PAGES.
Thérapeutique et matière médicale	JANBON.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	PUECH.
Hygiène	CARRIEU.
Médecine légale et médecine sociale	VIDAL.
Pathologie médicale et clinique propédeutique	BOULET.
Clinique médicale	L. RIMBAUD.
	GIRAUD, doyen
Clinique chirurgicale	MASSABUAU, ass.
	LAPEYRE.
Clinique obstétricale	P. DELMAS.
Clinique des maladies mentales et nerveuses ..	EUZIERE, doy. hon.
Clin. des malad. des enfants et hyg. du 1er âge ..	BOUDET.
Clinique de dermato-syphiligraphie	MARGAROT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ETIENNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	JEANBRAU.
Clinique gynécologique	N...
Clinique ophtalmologique	DEJEAN.
Clinique d'oto-rhino-lar. et chir. maxillo-faciale	TERRACOL.
Anatomie	LAUX.
Histologie	GRANEL.
Radiologie	LAMARQUE.
Propédeutique chirurgicale	AIMES.

Professeurs honoraires

MM. TEDENAT, BERTIN-SANS, CABANNES,
GALAVIEILLE, VIRES, BOSC, VILLARD, GRYNFELTT, RICHE.

Chargés d'enseignements complémentaires

MM.

MM.

Chimie	MONNIER, agrégé.	Clinique de la	
Microbiologie . .	CARRERE, agrégé.	tuberculose . .	VIDAL, professeur.
Hist. nat. méd.	HARANT, agrégé.	Pathologie chir..	MOURGUE-
Pharmacologie..	HARANT, agrégé.		MOLINES, agr.
Pathologie méd.	BOUCOMONT, agr.	— —	TRUC, agrégé.
— —	BERT, agrégé.	Chir. expérim. .	GUIBAL, agrégé.
Propédeut. méd.	P. RIMBAUD, agr.	Médecine opér..	ROUX, agrégé.
Clin. interne ..	PUECH, professeur.	Accouchements .	CADERAS
Clin. des mal.			DE KERLEAU, agr.
contagieuses . .	JANBON, profes.	Stomatologie . .	HOUPERT, doct. méd.

Agrégés en exercice

MM.

MM.

Médecine	P. RIMBAUD.	Chirurgie	MOURGUE-
—	BOUCOMONT.		MOLINES.
—	BERT.	—	GUIBAL.
—	LAFON, ch. d'agr.	—	ROUX.
Chimie	MONNIER.	Urologie	TRUC.
Bactériologie . .	CARRERE.	Accouchements .	CADERAS
Hist. nat. méd.	HARANT.		DE KERLEAU,



A MON PERE ET A MA MERE

A qui je dois tout.

A MON FRERE

A MA FIANCEE

A MES PARENTS

ET A MES FUTURS BEAUX-PARENTS

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR M. LISBONNE

Professeur de Microbiologie
Chef de Service à l'Institut Pasteur (1932-1935)

A NOTRE JURY DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR M. JANBON

Professeur de Thérapeutique et de Matière Médicale
Chef du Service des Maladies Contagieuses

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE L. CARRERE
Chef de Travaux de Microbiologie

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE P. RIMBAUD

A TOUS NOS MAITRES
DE L'ECOLE DE PLEIN EXERCICE
DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE CLERMONT-FERRAND

A TOUS CEUX DE LA FACULTE DE MEDECINE
DE MONTPELLIER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AVANT-PROPOS

M. le Professeur LISBONNE, dans une note à la Presse Médicale du 10 février 1940, communiquait quelques résultats obtenus à l'aide de deux procédés récents utilisant le tellurite de potassium pour le diagnostic rapide de la diphtérie. Il s'agissait d'une méthode extemporanée et d'un milieu de culture extra-rapide, proposés par le Dr A. MANZULLO de l'Institut de Bactériologie du Département national d'Hygiène de Buenos-Aires.

Ces recherches effectuées pendant la guerre, ne purent être menées du fait des circonstances, avec assez de continuité et sur une échelle suffisante. Aussi, M. le Professeur LISBONNE nous a-t-il fait l'honneur de nous proposer de les reprendre et d'en faire le sujet de notre thèse inaugurale.

Que sa grande simplicité nous permette cependant, de dire à ce Maître, qui a le rare privilège de posséder à la fois les vertus de l'esprit et les qualités du cœur, toute la part qu'il s'est acquise à notre reconnaissance. Il a toujours fait preuve pour nous, d'une affabilité et d'un dévouement sans limites. Il n'a ménagé, à notre égard, ni son temps, ni les conseils de sa grande expérience. L'amitié dont il nous a honoré, n'est pas près de s'éteindre et nous sommes fier d'avoir été son élève.

Nos remerciements vont également à M. le Professeur M. JANBON. Durant les six mois passés dans son service, nous avons pu apprécier l'enseignement clinique si clair et si riche qu'il allie à la plus charmante simplicité. Il a

bien voulu mettre son service à notre disposition et l'intérêt qu'il a pris à notre travail ne s'est jamais ralenti. Nous sommes particulièrement heureux qu'il ait bien voulu faire partie de notre jury.

M. le Professeur agrégé L. CARRÈRE a accepté avec empressement d'être du nombre de nos juges. Nous nous rappelons que sous sa direction, nous avons fait nos premiers pas dans la microbiologie, comme moniteur de travaux pratiques. Nous le prions de trouver ici, l'expression de notre gratitude pour l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné.

Que M. le Professeur agrégé P. RIMBAUD, qui a bien voulu accepter d'être de notre jury, trouve également ici, l'hommage de notre reconnaissance. Nous nous souvenons du maître charmant qu'il a été, durant les six mois passés comme externe dans son service. Son enseignement si remarquablement clair et précis et ses conseils nous ont été précieux. Nous lui devons beaucoup de notre formation médicale.

Nous ne saurions oublier enfin, la grande amabilité avec laquelle M. le Professeur P. DELMAS, Professeur de Clinique Obstétricale, nous a ouvert les portes de son service à la Maternité. Nous avons eu la bonne fortune de suivre pendant neuf mois, cet enseignement qu'il a su élever à la hauteur d'un art et son obligeance a été pour nous sans limite. Qu'il veuille bien nous permettre de lui dire respectueusement, la profonde admiration qu'il nous a toujours inspirée.

Nos remerciements vont enfin, à tous nos maîtres de la Faculté de Médecine de Montpellier, et à tous ceux de cette vieille Ecole de Médecine de Clermont-Ferrand, qui a présidé à nos débuts dans l'art médical, et dont le souvenir se rattache dans notre cœur, à la naissance d'amitiés très chères auxquelles nous devons beaucoup.

LE DIAGNOSTIC RAPIDE DE LA DIPHTÉRIE PAR LA METHODE DE MANZULLO

CHAPITRE PREMIER

CONSIDERATIONS GENERALES SUR L'UTILISATION DES METHODES RAPIDES POUR LE DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DE LA DIPHTÉRIE.

Au terme d'un travail sur le diagnostic bactériologique de la diphtérie écrit en 1915, C. W. BROERS concluait ainsi : « En lisant ces lignes, on peut avoir l'impression que ce diagnostic est un travail à faire désespérer ». Or, aujourd'hui, des progrès incontestables ont été faits, aussi bien par une connaissance plus approfondie du bacille de LOEFLE, que par l'utilisation de milieux électifs nouveaux. On arrive aisément, à partir de produits suspects, à isoler et à identifier le germe de la diphtérie. Mais ceci, à deux conditions essentielles : d'abord que le laboratoire soit bien outillé, ce qui ne saurait être le fait de tous ; d'autre part, qu'on ait à sa disposition tout le temps voulu. Si la première condition peut, à la rigueur, au moins théoriquement, être retenue, les exigences de la clinique ne sauraient s'accommoder de la seconde, ce qui suffit à justifier encore la conclusion de BROERS. Car, en effet, et c'est ce qui explique les difficultés pratiques que rencon-

tre le diagnostic bactériologique de la diphtérie, ce diagnostic a presque toujours un caractère d'urgence et exige, par conséquent, une réponse rapide. Mais en matière de bactériologie, rapidité et précision sont difficiles à concilier, et l'un ne peut guère être acquis qu'aux dépens de l'autre.

Nous n'avons pas, à l'heure actuelle, de moyen d'identifier à coup sûr, et dans tous les cas, un bacille diphtérique dans un délai aussi court, et ce moyen existerait-il, qu'on ne pourrait pas encore, dans les mêmes conditions, déterminer la valeur pathogène de ce germe. Force nous est donc, il faut le répéter, de nous accommoder, pour aller plus vite, de méthodes moins sûres. D'ailleurs, du point de vue pratique — et c'est essentiellement sur ce terrain que nous nous plaçons — les milieux couramment utilisés par les laboratoires, pour renseigner le praticien, permettent, dans la grande majorité des cas, de donner une réponse qui est utilisée avec fruit par la clinique. Parmi eux, le milieu au sérum coagulé proposé par LOEFLER en 1884, est encore le plus universellement employé. Une fois les colonies poussées, on se contente généralement, de faire les trois épreuves classiques du Gram, de la décoloration par l'alcool, et de la recherche des granulations métachromatiques de BABES ; épreuves qui ne demandent que quelques minutes. Malheureusement, la réponse ne peut parvenir le plus souvent, qu'après 18 à 24 heures, ce qui est encore manifestement trop long. Aussi, si nous abandonnons, en l'état actuel de nos connaissances, toutes prétentions de précision rigoureuse, on peut très bien abaisser ce délai de façon fort utile, à condition toutefois, de demander à la nouvelle méthode, une fidélité au moins égale à celle du sérum coagulé par exemple. Certes, dira-t-on, GIRAUD, de Marseille, y a récemment insisté et nous

l'avons constaté à plusieurs reprises, le sérum coagulé, dans le cas de diphtéries graves surtout, peut déjà montrer une culture assez abondante après 8 à 10 heures, et parfois moins. Mais ceci ne se produit pas avec suffisamment de régularité d'abord ; c'est là, en second lieu, un gain de temps qui peut ne pas être d'une grande utilité, à moins que le prélèvement n'arrive au laboratoire dans la matinée, ce qui n'est pas toujours le cas. En effet, pour peu que l'ensemencement ne soit fait qu'au début de l'après-midi, pour ne pas dire plus tard, le résultat ne sera connu que vers 10 heures du soir ou minuit, heure tardive pour le médecin, d'autant qu'il n'est pas encore passé dans les habitudes que le personnel des laboratoires d'analyse travaille la nuit. En conséquence, pour qu'un résultat soit vraiment rapide, et que cette rapidité soit utilisable dans la plus grande partie de la journée, il faut que les délais soient de l'ordre de deux à quatre heures au plus.

C'est ainsi que de nombreuses tentatives ont été réalisées dans ce but, et c'est à quoi répond surtout, nous le verrons dans un instant, le milieu sang-tellure de MANZULLO.

Ces techniques n'ont pas paru retenir beaucoup l'attention des bactériologistes français, non plus d'ailleurs que les différents milieux au tellure qui sont pourtant intéressants à d'autres points de vue, et ne semblent s'introduire en France, qu'avec une certaine lenteur. Cet anachronisme étonne quelque peu, au pays qui a vu naître, dans le court espace d'une génération, la sérothérapie préventive et curative de la diphtérie et la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de RAMON.

Nous avons cru faire œuvre utile, avant de décrire les deux techniques qui font l'objet de ce travail et d'indiquer les résultats que nous en avons obtenus, de donner

quelques détails sur le tellure et son utilisation pour le diagnostic de la diphtérie.

LE TELLURE ET LE DIAGNOSTIC DE LA DIPHTERIE

Les propriétés réductrices des bactéries sont connues depuis fort longtemps. De nombreux auteurs, surtout à l'étranger, parmi lesquels il faut citer : JAPHA en 1842, CHABRIE et LAPICQUE en 1890, plus particulièrement SCHEURLÉN et KLETT en 1900, GOSIO en 1904, GLOGER en 1906, se sont attachés à l'étude de la réduction par les bactéries, de composés métalloïdiques tels que ceux du sélénium et du tellure et surtout du tellurite de potassium qui nous intéresse spécialement ici.

GOSIO a montré que cette réduction s'extériorisait par une réaction colorée, sensiblement différente suivant les cas, grise, gris noirâtre, noire ou brune. Cette réaction est strictement inhérente à la présence de germes et de germes vivants. Cet auteur a pu établir une très longue liste de microorganismes, réduisant ainsi le tellurite de potassium et, pensant à une loi quasi générale, il avait proposé d'utiliser ce sel comme indicateur de la présence et de la vie microbienne, pour vérifier la stérilité des sérums, des milieux de culture, des liquides organiques, etc. Cette réaction est un phénomène vital, et toutes les fois qu'on détruit la vie des germes avec des agents divers (chaleur, antiseptiques) sans altérer leurs constituants cellulaires, il disparaît.

GLOGER reprit les travaux de GOSIO et montra que seules les bactéries dégageant de l'hydrogène sulfuré pou-

vaient donner lieu à cette réaction colorée, par libération de sulfite de tellure. Il constata également, le grand nombre d'espèces douées de cette propriété. Il insista en outre, sur le fait que les germes devaient être non seulement vivants, mais virulents, pour provoquer cette réduction.

D'autres auteurs confirmèrent ces données. KLETT et SCHEURLÉN montrèrent que la réaction avait lieu à l'intérieur du corps microbien et que si l'on incorporait du tellurite de potassium à un milieu solide, les colonies microbiennes devenaient noires ou grises suivant les cas, la coloration ne diffusant pas dans le milieu.

La concentration du tellurite de potassium joue un rôle primordial dans ce phénomène, et LÉVINE y a beaucoup insisté. Les germes sont de plus inégalement sensibles vis-à-vis du composé tellurique. De sorte que, si certains, pour une concentration donnée, ne provoquent pas de réduction et subissent même une action empêchante de la part de ce sel, d'autres provoquent une réduction intense et semblent même avoir une croissance accrue. C'est cette notion, mal interprétée, de concentration et d'inégale action réductrice des germes, qui a pu faire dire à GLOGER que les bacilles du groupe corynébactérium réduisaient mal le tellurite de potassium.

Se basant sur ces faits, plusieurs auteurs en vinrent à penser, qu'on pouvait peut-être parvenir ainsi à différencier certaines espèces entre elles.

Ce n'est qu'en 1912, que CONRADI et TROCH eurent l'idée d'introduire du tellurite de potassium dans du sérum coagulé de cheval, pour la recherche du bacille diphthérique. Ils montrèrent, que non seulement le bacille de LOEFLER poussait plus rapidement et que ses colonies étaient colorées en noir, mais encore que les autres germes subissaient une action empêchante qui retardait considérablement leur développement.

Le travail de CONRADI et TROCH a été le point de départ d'études nombreuses sur les milieux en tellure.

En 1918, PERGOLA proposait le milieu dit S.U.T., composé de sérum sanguin, de jaune d'œuf et de tellurite de potassium en solution à 2 p. 100. Une partie coagulée à 90° pendant une heure servait de milieu d'isolement ; l'autre, conservée liquide, était utilisée comme milieu d'enrichissement. On y plongeait directement l'écouvillon chargé sur la gorge. Ce dernier milieu devait être réservé, au cas où le bacille aurait été extrêmement rare dans le matériel suspect, pour pratiquer un deuxième ensemencement sur le milieu solide. Sur ce milieu, le bacille de LOEFLER se montrait sous la forme de colonies arrondies, à bords réguliers, luisantes, gris-noirâtres. Ce procédé a donné à PERGOLA des résultats constants et même supérieurs au sérum coagulé.

DOUGLAS en 1922, utilisa un milieu au sérum trypsiné auquel il ajouta du tellurite de potassium et du bouillon. SIERAKOWSKI en 1924, pour accélérer le diagnostic, imagina la culture sur lames, à l'aide d'un milieu sérum-glucose- TeO_3K_2 -gélose. Après avoir étalé deux ou trois gouttes de ce mélange sur une lame qu'il passait ensuite à la flamme, il ensemençait et mettait à l'étuve dans une boîte de Pétri contenant un morceau de coton mouillé. Les colonies étaient examinées ensuite, après quatre à six heures, directement au microscope après coloration. Les résultats étaient donc assez rapides et auraient concordé dans 90 p. 100 des cas avec la méthode classique. De plus, l'auteur a prétendu obtenir par ce moyen, une façon de différencier le bacille diphtérique des pseudo-diphtériques.

Une modification importante de ces techniques a été apportée avec ANDERSON, HAPPOLD, Mc LEOD, THOMSON et surtout par CLAUBERG, par l'addition de sang aux mi-

lieux. D'où, des formules complexes, souvent désignées par des initiales indiquant les produits utilisés. Ces milieux sont nombreux, et il serait fastidieux de les passer tous en revue. Le plus intéressant paraît bien être le milieu de CLAUBERG (sang-gélose-glycérine- TeO_3K_2) qui constitue une mise au point très sérieuse de la question. Il est extrêmement électif et permet un diagnostic relativement très sûr en 24 heures, du bacille diphtérique, dont les colonies prennent un aspect tout à fait particulier. Les résultats ne sont donc pas plus rapides que ceux obtenus avec le sérum coagulé, mais ils sont nettement plus fidèles. Pour un laboratoire ayant un très grand nombre d'examens à pratiquer, il permet en outre, sur le simple aspect macroscopique des colonies, de faire plus d'un millier d'examens par jour. Ce milieu utilisé en grand à l'étranger, a été expérimenté à l'Institut d'Hygiène et de Bactériologie de Strasbourg. Il a donné à Mlle O. GROOTEN, sur plusieurs centaines d'examens, des résultats excellents et supérieurs de 35 p. 100 au sérum coagulé.

Disons également, que ces milieux solides au tellure ont permis à ANDERSON et à ses collaborateurs, de remarquer que le bacille diphtérique poussait dans ces conditions sous trois aspects constants de colonies, différentes par leur couleur et leur forme. Ces auteurs ont donné le nom de *gravis*, *mitis* et *intermedius* à ces trois formes du bacille diphtérique. Ils ont établi un parallélisme entre ces types bactériologiques et l'allure clinique de la maladie. Ils ont ainsi substitué à la vieille distinction micromorphologique aujourd'hui abandonnée en « méchant bacille long, bon bacille court, etc. », une distinction macromorphologique de germes diversement pathogènes. Une nombreuse littérature a été et continue à être consacrée à cette question ; et si un grand nombre de bactériologistes semblent donner

raison à ANDERSON, l'accord est cependant loin d'être réalisé.

HORGAN et MARSHALL en 1931, ont simplifié ces milieux et augmentèrent fortement la proportion de tellurite de potassium. Le développement du bacille diphtérique était ainsi accéléré, la croissance des autres germes mieux retardée.

C'est en modifiant à son tour cette technique, que MANZULLO en 1938, imagina le milieu que nous allons étudier.

Disons en terminant ce chapitre, que des cultures très rapides ont été en dehors de l'utilisation du tellure, proposées en 1900 par FOLGER et par SOLE. Il s'agissait d'une culture sur tampons dont MANZULLO s'est inspiré. Ces auteurs imbibaient de sérum de bœuf ou de mouton, un tampon de coton monté. Un bref passage à la flamme coagulait superficiellement le sérum. Cet écouvillon était alors porté à l'étuve. Après quatre à six heures, et souvent moins, de nombreux bacilles diphtériques étaient déjà visibles sur des frottis. Ce procédé qui a donné à de nombreux auteurs tels que BRADY, COSACK, HEINRITZ, CIANTINI, des résultats constants et fidèles, a le gros inconvénient de perdre toute sensibilité si quelques heures s'écoulaient entre le prélèvement et la mise à l'étuve. Son utilisation en pratique s'en trouve réduite, nous allons voir que la technique de MANZULLO ne présente pas cet inconvénient.

CHAPITRE II

LA CULTURE RAPIDE SUR MILIEU SANG-TELLURE DE MANZULLO

1° Composition et préparation du milieu.

La composition de ce milieu est très simple, nous l'avons déjà dit, sa préparation ne l'est pas moins.

Sang, bouillon de viande, tellurite de potassium, tels sont ses constituants.

Le bouillon doit être préparé avec une excellente peptone.

La solution de tellurite de potassium est une solution à 2 p. 100 dans l'eau distillée (eau distillée, 10 cc., TeO_3K_2 , 2 ctgr). Il faut que la dissolution soit exécutée à une température ne dépassant pas 45 à 50°, faute de quoi, on risque une réduction partielle du composé tellurique. Elle ne sera pas autrement stérilisée. Un détail sur lequel nous devons attirer l'attention, consiste à peser et à porter rapidement le sel dans l'eau distillée, car il est très hygroscopique, devient vite déliquescent et dans ces conditions, difficile à manier. De même, le flacon le contenant doit être très hermétiquement bouché. Une partie de cette solution sera mise de côté dans un tube bien fermé, laissé

à l'obscurité et à la température ordinaire. Nous nous en servirons dans un instant.

Quant au sang, MANZULLO s'est servi de sang de bœuf défibriné. Nous avons personnellement utilisé du sang humain, qui nous a donné d'excellents résultats, et que nous pouvions nous procurer plus facilement. Peut-être, le sang de mouton serait-il meilleur encore, puisque pour la préparation du sérum coagulé, certains auteurs tels que CHALLIER, REVOL et VIALIER de Lyon, le recommandent spécialement.

Ces trois substances sont alors mélangées très aseptiquement, cela va sans dire, dans la proportion suivante :

Bouillon						15	cc.
Sang défibriné						1,5	cc.
Solution de TeO_3K_2 à 2 p. 100						1,5	cc.

On obtient ainsi, une concentration de tellurite de potassium correspondant à 0,16 p. 100, concentration optimum selon MANZULLO.

Le milieu ainsi composé, doit avoir une belle couleur rouge cerise. Il est réparti dans des tubes de 10 cc., à raison de 2 cc. par tube. Ces petites quantités, que nous avons utilisées par raison d'économie, se sont montrées très suffisantes. Ce milieu sera gardé à la glacière, où il se conserve une quinzaine de jours. Au bout de ce temps, en effet, les hématies s'hémo lysent et la teinte du liquide passe du rouge cerise au rouge sombre, en même temps qu'il devient translucide. A partir de ce moment, nous avons constamment noté que sa sensibilité diminuait. C'est là, évidemment, un inconvénient, mais la grande simplicité de préparation de ce milieu y obvie en partie, puisqu'elle n'exige aucun matériel spécial, aucun produit rare et qu'elle ne demande que quelques minutes.

2° *Technique de l'ensemencement.*

On utilisera, pour faire le prélèvement, ~~des~~ tampons de coton hydrophile montés sur des baguettes de verre ou de bois, en tous cas non métalliques. Cette condition n'est pas absolument rigoureuse et nombre de nos examens ont été pratiqués sur des écouvillons du type courant métallique, qui arrivaient à l'Institut Bouisson-Bertrand de l'extérieur. Cependant, il vaut mieux les rejeter en raison des altérations que le milieu peut subir, et de la présence de particules noirâtres que l'on trouve sur la préparation.

Le prélèvement sera fait très correctement. Ce rappel n'est peut-être pas inutile à qui a vu arriver au laboratoire des écouvillons de fortune, dans des emballages improvisés, des prélèvements teintés de collutoires, à qui a vu enfin, pratiquer à l'aveugle, un prélèvement rhinopharyngé sur un enfant rétif. En un mot, comme le dit P. MELNOTTE : « Prélever comme il faut, quand il faut, où il faut ». Il y a de plus, tout intérêt à charger l'écouvillon en prélèvement.

Ceci fait, l'écouvillon est placé dans son tube et porté au laboratoire. Si ce dernier n'est pas sur place, et qu'un long voyage soit nécessaire, la méthode perd évidemment de son intérêt, mais elle conserve par contre toute sa sensibilité. Nous avons eu maintes fois l'occasion, sans inconvénient, de pratiquer des ensemencements après 24 heures et même deux jours, ce qui constitue quand même un avantage.

L'écouvillon est alors plongé directement dans le milieu de MANZULLO, qu'on aura soin, au sortir de la glacière, d'agiter et de réchauffer légèrement. Le tout sera placé à l'étuve à 37°. Le tube doit être très incliné, l'écouvillon

ne trempant que par son extrémité dans le liquide, de manière à obtenir la plus grande surface d'aération possible.

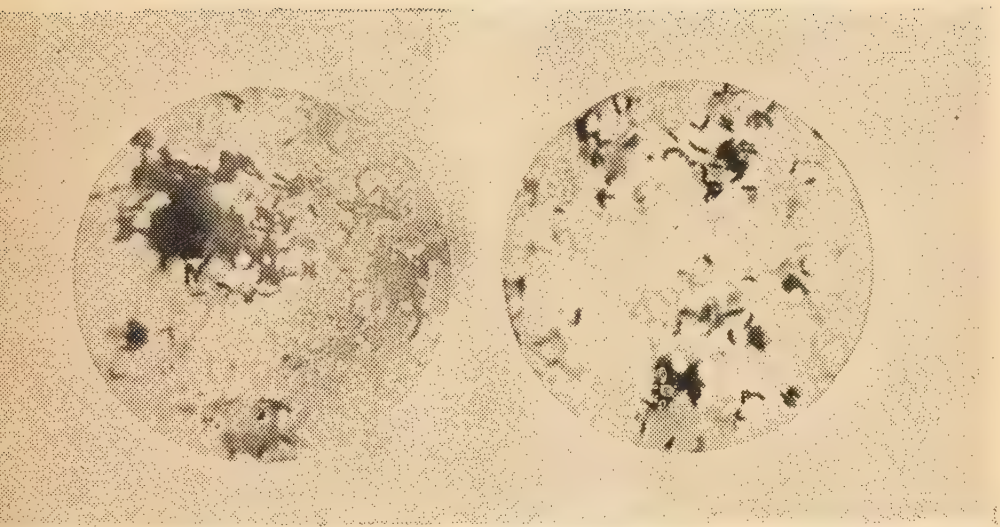
3° *Examen.*

Le tube est retiré de l'étuve au bout de trois à quatre heures. MANZULLO a fait remarquer que la présence du bacille diphtérique pouvait être déjà soupçonnée sur le simple aspect de l'écouvillon. Le milieu est devenu rouge très sombre, et le coton présente en effet, des zones de coloration franchement noires correspondant aux débris d'exsudats arrachés au cours du prélèvement. Nous avons aussi, remarqué souvent ce phénomène en cas de diphtérie, mais nous pensons que pour avoir toute sa valeur, il doit être observé très précocement, après une demi-heure ou une heure d'étuve au plus. Après quatre heures, il ne peut plus être attribué à la seule présence du bacille de LOEFFLER. Nous avons vu, qu'un grand nombre de germes peuvent réduire les sels de tellure au bout d'un temps plus ou moins long. Quelques saprophytes banaux du cavum peuvent provoquer le phénomène. Peut-être, avec un peu d'habitude, pourrait-on reconnaître à l'écouvillon, en cas de diphtérie, un aspect indéfinissable assez particulier. Quoi qu'il en soit, ce n'est pas sur cet examen macroscopique que l'on se basera pour donner une réponse ferme.

On effectue trois frottis.

L'un est coloré par la méthode de GRAM, mais en insistant sur le premier temps (violet de gentiane : 1 min. 1/2).

Le deuxième subit l'épreuve de la décoloration par l'alcool acétone, qu'il faut savoir pousser jusqu'à dix minutes dans les cas douteux.



Préparations de deux cultures après quatre heures d'étuve.

(Immersion 2,Omm. Ouv. 1,30 Ocul. 6.)

(Cliché Herbaut)

Le dernier est réservé à la recherche des granulations métachromatiques de BABES, par la coloration de NEISSER.

Bleu de méthylène acétique à chaud 10 min.

Vésuvine aqueuse 1 min.

Ces trois épreuves, qui, on le sait, ont pour but de différencier le bacille diphtérique vrai des pseudo-diphtériques, ne sont que des tests de probabilité, et dans certains cas, leurs discordances mettent souvent les laboratoires dans l'embarras. On ne saurait cependant les négliger, et dans l'ensemble, elles représentent le seul procédé rapide de différenciation.

Qu'observe-t-on alors à l'examen microscopique de ces frottis ?

Il faut ici, bien attirer l'attention sur l'aspect tout à fait spécial que prend dans de telles conditions de culture, le bacille diphtérique ; aspect capable de dérouter un observateur non averti. Le bacille de LOEFLER se présente sous la forme d'un bâtonnet grossier, à l'aspect soufflé, d'un bacille qui aurait été trop bien nourri. Les reproductions microphotographiques ci-jointes, rendent assez bien compte de cette morphologie.

De plus, ce bacille prend intensément les colorants. Sa teinte violet foncé, presque noire, se détache avec une grande netteté sur le reste rosé de la préparation. Ces caractères, que nous avons constamment observés, ont été notés par tous les auteurs ayant utilisé les milieux au sang et au tellure. Seul, le mode de groupement en classique paquet d'épingles, rappelle qu'il s'agit du bacille de LOEFLER. Il ne faut pas conclure de cela, à un inconvénient grave de la méthode. Après avoir examiné quelques préparations, on parvient vite à reconnaître le bacille diphtérique sous sa nouvelle forme. Ces particularités morphologiques sont dues, très probablement, à la présence des

auximones de croissance du sang et peut-être aussi, à l'action du tellurite de potassium. Si la culture est repiquée sur sérum coagulé, le bacille diphtérique reprend aussitôt, l'aspect typique qu'on est accoutumé de lui voir.

Quant à la décoloration par l'alcool acétone, disons que le bacille ainsi cultivé, se décolore aussi facilement que lorsqu'il a poussé sur sérum coagulé.

L'aspect des granulations métachromatiques est également le même, deux granulations bipolaires ou trois, rarement plus. Si certains ont pu nier la présence de ces corpuscules, dans les cultures jeunes du bacille diphtérique, nous devons dire qu'après quatre heures, ils existaient sur toutes les souches que nous avons étudiées ; hormis le cas, bien entendu, où ils manquaient sur sérum coagulé, ce qui arrive malheureusement quelquefois.

4° Résultats.

MANZULLO a examiné de la sorte, 100 exsudats pharyngés. Ses résultats ont été contrôlés d'une part, par réensemencement de son milieu sur milieu de HORCAN et MARSHALL ; en second lieu, par inoculation au cobaye. Un premier animal était injecté avec 1 cc. de suspension de la deuxième culture ; un autre, recevait 1 cc. de cette suspension, additionnée de 0 cc. 5 de sérum antidiphtérique. Sur 48 cas de diphtéries authentiques, la culture rapide n'a pas été une seule fois défailante.

Nos observations sont identiques. Nous avons opéré le contrôle par ensemencement simultané sur sérum coagulé et sur milieu de MANZULLO. Nous regrettons que les difficultés actuelles ne nous aient pas permis d'utiliser systématiquement les cobayes comme a pu le faire MANZULLO.

Nous avons examiné 69 prélèvements auxquels il convient d'ajouter les 46 examens pratiqués par M. le Professeur LISBONNE, en 1940, soit un total de 115 prélèvements.

Nous avons fait, dans notre statistique, une distinction entre les angines diphtériques que nous avons vues, au commencement de la maladie ou après un début de traitement sérothérapique, et les porteurs de germes. Ces derniers ne sauraient d'ailleurs, aucunement bénéficier d'une telle méthode visant uniquement à l'accélération du diagnostic ; mais nous avons tenu à expérimenter le procédé sur quelques-uns d'entre eux, à titre documentaire. La sensibilité du milieu de MANZULLO s'est montrée très proportionnelle à la virulence des germes et, si chez tous nos diphtériques nous avons obtenu, à l'exception de deux cas, une culture en moins de quatre heures, l'abondance et la précocité de celle-ci a toujours varié avec la gravité de l'affection. Des résultats inconstants même, ont été obtenus chez des porteurs de germes sains ou convalescents.

Diagnostic clinique	Nombre de cas	Sérum coagulé		Milieu de Manzullo	
		+	—	+	—
Angines diphtériques ou croups	58	56	2	56	2
Sujets soupçonnés d'être porteurs de germes	13	10	3	7	6
Angines banales	44	»	44	»	44

Tableau n° I

Nous résumons nos résultats d'ensemble dans le tableau N° 1.

Tous les résultats ont été notés, sur milieu de MANZULLO après quatre heures d'étuve, souvent moins dans certaines diphtéries graves, jamais plus ; sur sérum coagulé, après 16 à 20 heures, quelques fois 8 à 10. La première ligne horizontale du tableau peut faire croire à une concordance rigoureuse entre les deux méthodes. Il n'en est pas tout à fait ainsi.

En effet, dans deux prélèvements négatifs (après quatre heures), sur milieu de MANZULLO, le résultat positif a été obtenu sur sérum coagulé, mais dans ce cas, les cultures étaient très pauvres et n'ont poussé qu'après 24 heures.

Par contre, dans deux autres prélèvements, négatifs sur sérum coagulé, même après 48 heures, le résultat positif a été fourni par le milieu sang-tellure. Ces faits ne sauraient en rien entamer la valeur de l'une ou de l'autre méthode, et nous semblent devoir être attribués uniquement à la façon dont les prélèvements furent exécutés.

De toute manière, les résultats obtenus avec le milieu de MANZULLO sont extrêmement intéressants, tant par leur constante rapidité que par leur fidélité.

5° *Discussion et interprétation des résultats.*

L'aspect des préparations au microscope, comme on peut s'en rendre compte sur les photographies que nous reproduisons, ne montre pas, comme c'est le cas sur sérum coagulé, une grande abondance de germes. Après quatre heures d'étuve seulement, il n'y a pas lieu de s'en étonner. Mais, on peut se demander s'il y a simplement conservation par le milieu, des germes existant dans les exsudats, ou, s'il y a bien enrichissement. La constatation de résul-

tats inconstants chez les porteurs de germes, et les cultures d'autant plus rapides et abondantes qu'on se trouve en présence de diphtéries plus graves, pourraient sembler justifier la première supposition. Pour notre part, nous croyons devoir attribuer au tellurite de potassium et à son association heureuse avec le sang défibriné, un rôle particulièrement excitateur du développement du bacille diphtérique. Cela, d'autant plus, que le germe est plus virulent. Cette hypothèse peut trouver du reste, une justification dans les constatations suivantes.

Nous avons essayé de modifier le milieu de MANZULLO de la façon suivante :

Sérum de cheval	1 cc. 5
Extrait de plaquettes	XV gouttes
Solution de TeO_3K_2 à 2 p. 100.	1 cc. 5
Bouillon de viande	15 cc.

ou bien :

Sérum de cheval	15 cc.
Solution de TeO_3K_2 à 2 p. 100.	1 cc. 5
Extrait de plaquettes	XV gouttes

Nous n'avons jamais obtenu, dans ces conditions, de résultats en 4 heures. Il a fallu attendre 16 et 24 heures pour que la culture se développe.

D'autre part, faisant l'essai inverse, le tellurite de potassium a été supprimé du milieu avec des résultats tout aussi tardifs. En outre, nous avons vu que l'hémolyse faisait perdre beaucoup de sa sensibilité au milieu. C'est donc dire, que l'association sang total-tellurite de potassium, joue bien un rôle actif dans le développement du bacille diphtérique. L'excitation de la croissance de ce germe est assez manifeste au surplus, si l'on considère que sur des écouvillons complètement desséchés après 48 heures, la culture était abondante au bout de quatre heures d'étuve.

Une deuxième question se pose : ce milieu est-il électif pour le bacille diphtérique vrai ?

En ce qui concerne les germes autres que ceux du groupe corynébacterium, nous avons toujours observé un très net retard de culture par rapport au bacille de LOEFLER. D'ailleurs, cela ne présente pas un grand intérêt, car, même s'il existe sur la préparation quelques saprophytes du rhino-pharynx, on ne sera guère gêné pour reconnaître le bacille diphtérique à sa forme si particulière. Quant aux pseudo-diphtériques, bacille d'HOFFMAN entre autres, MANZULLO a prétendu que les sels de tellure retardaient « considérablement » leur développement par rapport au bacille de LOEFLER. Or, il ne semble pas, en fait, que ce retard soit tellement considérable. Il sera bien difficile en pratique de dire une fois encore, si l'on se trouve en présence de l'un ou de l'autre. Si, dans d'assez nombreux cas, l'examen clinique aidé des épreuves de décoloration et de la recherche des granulations métachromatiques peut permettre d'éliminer, presque à coup sûr, l'un des deux, dans d'autres, le doute planera. La réponse, en l'absence d'épreuves plus longues (ensemencement sur gélose de VEILLON, fermentation des sucres, inoculation au cobaye) sera évasive, laissant au médecin, le soin de l'utiliser suivant son sens clinique.

Mais, nous avons vu que les méthodes rapides devaient, à l'heure actuelle tout au moins, se passer d'une précision absolue. Il est à prévoir du reste, que de longues années de recherches seront encore nécessaires, pour permettre aux bactériologistes d'établir une distinction rapide et rigoureuse entre ces véritables sosies de la bactériologie que constituent les différentes espèces du groupe Corynébactérium.

CHAPITRE III

PROCEDE EXTEMPORANE DE DIAGNOSTIC IN-SITU DE LA DIPHTERIE: REACTION DE MANZULLO

I. — *Principe.*

MANZULLO a remarqué, on s'en souvient, que les fragments de fausse membrane arrachés pendant le prélèvement, et qui adhèrent à l'écouvillon, sont le siège au bout d'une heure ou deux d'étuve en cas de diphtérie, d'une coloration noire qui témoigne de la réduction du tellurite de potassium. Il fait remarquer en outre, que si la fausse membrane n'est pas de nature diphtérique, non seulement le noircissement est moindre et beaucoup plus homogène à la superficie de l'écouvillon, mais encore qu'il est plus tardif. En un mot, la réduction du TeO_3K_2 est plus précoce et plus intense pour le bacille diphtérique que pour les autres germes. Il pratiqua plusieurs essais in-vitro à l'aide de fibrine de sang de bœuf imprégnée d'une culture de bacille diphtérique en bouillon de 24 heures. Par action du tellurite de potassium, il obtint toujours dans ces conditions, un noircissement après une heure ou deux d'étuve. Cela est parfaitement en accord avec les travaux que nous avons signalés au début de cette étude. Il est à regretter par contre, que MANZULLO n'ait pas fait, du moins à notre

connaissance, des essais semblables, non plus avec des cultures de bacilles diphthériques, mais avec des cultures de différents germes; en particulier de ceux qu'on a coutume de rencontrer dans le rhino-pharynx.

Il eut en tous cas l'idée d'observer les effets de l'application directe dans la gorge, sur la fausse membrane elle-même, d'une solution de tellurite de potassium. Il s'aperçut alors que dans le cas de diphthérie et de diphthérie seule, l'exsudat noircissait pour ainsi dire instantanément, ce qui constituait un phénomène d'une grande portée pratique.

Nous l'avons expérimenté à notre tour sur plusieurs malades, et si comme on va le voir, nos résultats sont moins constants que ceux de MANZULLO, ils sont en tous cas nettement en faveur de cette méthode que son extrême simplicité met à la portée de tous.

2° Technique.

La solution utilisée est la même, on se le rappelle, que celle indiquée pour la préparation du milieu de MANZULLO. Solution de TeO_3K_2 à 2 p. 100 dans l'eau distillée. Cette solution se conserve trois semaines à l'obscurité et à la température ordinaire. Au bout de ce temps, elle se trouble, prend un aspect opalescent du à la précipitation du sel, elle doit être alors rejetée (1).

En présence d'une angine pseudo-membraneuse suspecte, on imbibé de cette solution un tampon monté comme pour faire un prélèvement, et, après avoir soigneusement repéré une région de la fausse membrane aussi blanche que

(1) La solution doit pouvoir se conserver en ampoules scellées, colorées et bien remplies. De telles ampoules de 1cc. seraient très maniables et peu onéreuses.

possible, on tamponne plusieurs fois de suite de façon à mettre l'exsudat et le liquide en contact intime. Ce détail est important, car faute de cette précaution, la salive dilue très rapidement la solution qui désormais ne peut plus agir. Après deux à trois minutes, quelques fois 5 ou 10, jamais plus, on observe à l'endroit tamponné, un noircissement très net, persistant, pouvant durer plusieurs jours et correspondant à l'empreinte de l'écouvillon. Il peut s'agir suivant les cas, d'une coloration grise, gris-noirâtre, ou même brune. Dans ce cas, on a de fortes chances d'être en présence d'une manifestation diphtérique. Si, par contre, il s'agit d'une angine à fausses membranes, non diphtérique, la région attouchée reste inaltérée définitivement ou momentanément; mais alors, le noircissement n'apparaît qu'au bout d'un délai assez long; trois quarts d'heure à une heure. La marge est on le voit suffisante.

Il convient pour pratiquer cet examen, d'être très bien éclairé. C'est là un détail qui a son importance. Le miroir frontal, type Clar, nous paraît être le meilleur instrument pour réaliser ce but. Si en effet on se contente souvent, à tort, d'un éclairage de fortune pour examiner une gorge et y déceler éventuellement la présence de fausses membranes, la lumière est ici indispensable si l'on veut pouvoir correctement repérer une région donnée, la retrouver ensuite, et voir si un noircissement s'est produit. Ce noircissement n'est pas forcément très intense, il ne « crève pas toujours les yeux », et au milieu d'exsudats souvent grisâtres, on aurait du mal à apprécier le changement de teinte.

Quelques précautions doivent être prises en outre. C'est ainsi qu'on aura soin de ne pas toucher la langue avec le tampon, l'enduit qui recouvre cet organe à sa base, pouvant noircir, en dehors de toute cause pathologique. Au surplus, la réaction peut être troublée, si auparavant il a été appli-

qué un collutoire (bleu de méthylène) ou si le malade s'est gargarisé (eau oxygénée, acide tannique).

Ajoutons que le tellurite de potassium en si petites quantités, n'est nullement toxique et que son application locale ne s'accompagne d'aucun phénomène de causticité.

3° Résultats.

MANZULLO a examiné de la sorte soixante-quinze malades atteints d'angines à fausses membranes et nous reproduisons ses résultats dans le tableau n° II.

Réaction de Manzullo	Examen bactériologique	Nombre de cas
+	+	37
—	—	35
—	+	3
+	—	0

Tableau n° II

Il a donc obtenu 96 p. 100 de concordance entre les résultats de sa méthode et l'examen bactériologique et clinique, pour des angines diphtériques ou non diphtériques. Il n'a jamais observé de cas où sa réaction fut positive, alors qu'il ne s'agissait pas de diphtérie.

Nous utilisons le même tableau (n° III) pour indiquer nos résultats qui n'ont porté, nous le regrettons, que sur un trop petit nombre de malades.

Cela nous donne, si nous pouvons calculer un pourcentage valable sur trente cas, 83 p. 100 de concordance. La réaction a été défailante dans deux cas d'angines diphtéri-

ques authentiques. Par contre, elle a donné un résultat positif avec trois angines à fausses membranes manifestement non diphtériques. Cette constatation, malgré un taux de concordance intéressant, est évidemment assez fâcheuse, et il conviendrait d'expérimenter cette méthode sur un très grand nombre de cas, pour pouvoir se faire une idée plus réelle de sa valeur.

Réaction de Manzullo	Examen bactériologique et clinique	Nombre de cas
+	+	15
—	—	10
--	+	2
+	—	3

Tableau n° III

4° Essais d'interprétation.

Pouvons-nous à présent interpréter les résultats de la méthode extemporanée, à la lumière de nos connaissances sur le pouvoir réducteur des germes microbiens vis-à-vis du tellurite de potassium?

Il est indéniable, d'après les observations de MANZULLO et les nôtres, que dans la grande majorité des cas, la réaction concorde avec l'examen bactériologique et clinique; ceci, malgré le scepticisme bien compréhensible d'auteurs tels que MAGGIO qui a pu dire, n'ayant pas expérimenté le procédé, que les résultats étaient trop beaux pour avoir une réelle valeur. Il fait remarquer, à l'appui de sa criti-

que, que le bacille diphtérique n'est pas le seul germe à réduire le tellurite de potassium, ce que nous savons par ailleurs. Mais il n'explique pas comment il se fait que, dans le plus grand nombre de cas d'angines pseudo-membraneuses non diphtériques, la fausse membrane, qui n'est pourtant pas stérile, reste inaltérée après l'application du topique tellurique.

Il est vraisemblable, d'après les travaux de GOSIO et de GLOGER, que la concentration de la solution (2 p. 100) paraît être celle qui est nécessaire et suffisante pour que le bacille diphtérique provoque une réduction intense. Il eut été évidemment très instructif, de faire des examens à l'aide de concentrations différentes, mais le nombre de malades que nous avons pu examiner, était trop restreint pour donner à ces expériences une valeur comparative quelconque. En outre, il se peut, ainsi que le fait remarquer GLOGER, que la virulence du bacille diphtérique intervient. Il est donc logique d'attribuer au bacille de LOEFLER dans le cas d'angine pseudo-membraneuse diphtérique, le noircissement de la fausse membrane.

Comment expliquer, par contre, que la réaction soit négative avec les fausses membranes non diphtériques? Nous avons vu, que dans certaines circonstances, elle ne se produit pas; que dans d'autres, elle apparaît, mais tardivement; une demi-heure, une heure au plus. Dans le premier groupe de faits, l'absence de réduction n'est évidemment pas imputable à l'absence de germes. Peut-être, accessoirement, leur manque de virulence et surtout la concentration de la solution, ne permettent pas à la réduction de s'opérer, d'autant plus que les angines pseudo-membraneuses non diphtériques, sont le plus souvent dues aux hôtes habituels du cavum qui, pour la plupart, réduisent mal les sels de tellure (streptocoques, pneumocoques, spiro-

kètes, etc.). En cas de réaction retardée, il doit s'agir, là encore, de germes mauvais réducteurs et gênés par la concentration de la solution.

Cette interprétation est forcément hypothétique, et de nombreuses recherches seraient à faire pour permettre de donner une explication pleinement satisfaisante de ces faits, et en particulier des cas où la réaction ne concorde pas avec les données bactériologiques et cliniques.

Nous n'avons trouvé dans la littérature française aucune trace de travaux semblables, et les circonstances actuelles rendent difficile la consultation des travaux étrangers.

Quoi qu'il en soit, la réaction de MANZULLO constitue, malgré son caractère empirique et les incertitudes qui planent sur son mécanisme, une tentative intéressante au secours de la clinique.

CONCLUSION

Les résultats obtenus par ces deux nouvelles techniques, sont à n'en pas douter, un argument de grande valeur, en faveur de leur utilisation; il nous semble, qu'ils devraient inciter à des recherches plus étendues que nous n'avons pu le faire au cours de ce modeste travail.

Il arrive très fréquemment à la campagne, malheureusement, que le laboratoire soit très éloigné et que sa réponse dans le cas où elle est sollicitée, ne parvienne que trois ou quatre jours après, n'ayant plus alors aucune valeur. Nous avons l'exemple d'un médecin de canton d'un de nos départements d'Auvergne, qui a dû, comme tant d'autres, l'hiver dernier, tenir tête à une grave épidémie de diphtérie. C'est précisément dans de telles circonstances, que la pratique de la réaction de MANZULLO doit trouver sa principale justification.

Quant à la culture rapide, son utilisation peut incontestablement rendre de grands services. Sans doute, on ne saurait trop le rappeler, la clinique doit-elle toujours tenir la première place, il n'empêche que dans certains cas, le diagnostic sera quelques fois hésitant, voire impossible. « Même avec une grande habitude », s'exprime G. TEMPE, « on ne peut diagnostiquer certaines angines érythémateuses

et surtout pultacéo-membraneuses sans le secours du laboratoire. Pour la première, la localisation de la rougeur aux piliers, l'œdème possible de la luette, la notion d'épidémi-cité, font penser à la diphtérie, mais on ne peut rien affirmer avant le résultat de la culture de la gorge.

Les angines pultacéo-membraneuses sont les plus embarrassantes. Ce sont des angines lacuno-cryptiques, avec des exsudats blanchâtres, arrondis, non confluent, se détachant assez bien, et qui, mis dans l'eau, ne se dissocient pas complètement. On aperçoit quelquefois au sommet de l'amygdale, un mince voile qui ressemble à une fausse membrane au début. L'examen du laboratoire permet seul le diagnostic. »

Ces circonstances ne sont pas évidemment journalières. Très souvent, au moins dans les cas douteux, l'injection de sérum mettra à l'abri la conscience du médecin. Mais cette injection n'est pas toujours inoffensive et l'apparition d'accidents sériques parfois graves, pourront faire regretter un geste hâtif, si le bacille diphtérique n'est pas en cause. Si, par contre, on se trouve en présence de l'une des éventualités signalées par TEMPE, c'est là surtout, que le médecin sera heureux de n'avoir pas laissé passer sans traitement, une nuit entière à son malade.

De toutes façons, à l'heure actuelle, où la pratique de l'injection unique de sérum antidiphtérique, préconisée par RAMON et DEBRE, et que M. le Professeur JANBON utilise avec un plein succès, depuis trois ans dans son service des maladies contagieuses, commence à se répandre, il sera facile d'attendre trois ou quatre heures la réponse du laboratoire, avant d'injecter en toute sécurité et en pleine connaissance de cause, la dose de sérum unique et massive d'emblée.

BIBLIOGRAPHIE (1)

- ANDERSON (J. S.), HAPPOLD (F. C.), Mc LEOD (J. W.), THOMSON (J. G.).
— *Journ. of Path. and Bact.* 1931 (5) xxxiv 667.
- ANDREWS, BULLOCH, DOUGLAS, DREYERS, FILDES, LEDINGHAM, WOLF.
— *Diphtheria, Medical Research Council*, 1923, London.
- BIFULCO (C.). — La recherche rapide du bacille diphtérique chez les malades et les porteurs au moyen de nouveaux milieux d'enrichissement à l'ovalbumine. *La Riforma Medica*, 1923 (47).
- BRADY (M. B.), BRODY (H.), GAFFNEY (C. A.), LENARSKY (M. J.), SMITH (L. W.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. a Med.* 1934-(3), xxxii-548.
- BRADY (M. B.), LENARSKY (M. J.), SMITH (L. W.), GAFFNEY (C. A.).
— A rapid method for the identification of diphtheria bacilli. *Journ. Amer. Med. Ass.*, 1935-civ-1881.
- BROERS (C. W.). — *Folia Microbiologia*, 1915-iii.
- CHABRIE (C.) et LAPICQUE (L.). — Sur l'action physiologique de l'acide sélénieux. *Compte rendu des séances de l'Académie des Sciences*, 1890-cx-152.
- CHALIER (J.), REVOL et VIALIER. — L'emploi du sérum coagulé de mouton pour le diagnostic bactériologique du bacille diphtérique. *Progrès Médical*, 1939-(14).
- CIANTINI (F.). — L'accertamento batteriologico della difterite con sistemi semplificati. *Diag. e. tecn. di labor.* 1937-vii-1.
- CLAUBERG (K. W.). — Ueber einen Elektivnährboden für Diphtheriebazillen der eine makroskopische Plattendiagnostik ermöglicht. *Zentralblatt für Bakter.* I Orig. 1929-cxiv-539.
-

(1) Les chiffres suivant l'indication du périodique, se rapportent, le premier, à l'année; le deuxième, entre parenthèses, au numéro; le troisième, en chiffres romains, à la tomaisn; le dernier, en chiffres arabes, à la page à consulter.

- (1) CONRADI (H.). — Ueber ein neues Prinzip der elektiven Züchtung und seine Anwendung bei Diphtherie, *Zentralblatt für Bakter. II Abt. Referate*, 1913-DVII-93.
- CONRADI (H.) und TROCH (P.). — Ein verfahren zum Nachweis der Diphtheriebazillen, *Münchn. Med. Wochenschr.* 1912-(30)-DIX-1652.
- COSACK (G.). — Culture rapide du bacille de la diphtérie par la méthode de Folger, *Deutsch. Med. Wochenschr.* 1937-(34)-DXIII-1297. In *Bull. Office intern. Hyg. Publ.* 1938-(8)-xxx.
- DOUGLAS (S. R.). — A new medium for the isolation of bacillus diphteriæ, *Brit. Journ. Experim. Path.* 1922-III-263.
- GIRAUD (P.). — A propos des méthodes rapides de diagnostic de la diphtérie, *Presse Médicale*, 20-23 mars 1940.
- GLOGER (R.). — Kallium Tellurosum in der Medizin und Hygiene, *Zentralblatt für Bakter. I Orig.* 1906-xxxx-584.
- GOSIO (B.). — Sulla decomposizione di sali del tellurio per opera dei microorganismi, *Rendiconti Roy. Acad. dei Lincei*, 1904-XIII-422.
- GOSIO (B.). — I telluriti e seleniti come rivelatori d'inquinamenti batterici, *Rendiconti Roy. Acad. dei Lincei*, 1905-XIV-188.
- (2) GOSIO (B.). — VI^e Congrès international de chimie appliquée, 1906-v-151.
- GROOTEN (O.). — Diagnostic bactériologique de la diphtérie sur milieu de Clauberg, *Revue d'Immunologie*, 1940-(1)-vi.
- HEINRITZ (R.). — Une méthode rapide de recherche du bacille diphtérique dans le naso-pharynx, *Deutsch. Med. Woch.*, 1937-(52)-DXIII. In *Presse Médicale* 20 juillet 1938.
- HORGAN (E. S.) and MARSHALL (A.). — *The Journ. of Hyg.*, 1932-(4)-xxx-544.
- JAPHA (A.). — Experimenta nonnulla de vi selenii in organismus animale. *Dissertation*, Halle, 1842.
- KLETT (A.). — Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien, *Zeitschr. für Hyg. und infektionkr.* 1900-XXXIII-137.
- LEVINE (V. F.). — The reducing properties of microorganisms with special references to selenium compounds, *Journ. of Bacteriology*, 1924-x.
- LISBONNE (M.). — Sur deux méthodes rapides de diagnostic de la diphtérie, *Presse Médicale*, 10 février 1940.
- MAGGIO (A.). — La culture sur tampons comme moyen diagnostico bactériologique pour la diphtérie, *Boll. della Sez. Italiana del Soc. intern. di microbiologia*, 1939-(5-6)-xi-139.
- MANZULLO (A.). — Nuevo método para el cultivo del corynebacterium diphteriæ y nuevo método para el diagnostico de la difteria del hombre, *Folia Biologica*, 1939-(86-87-88-89). Buenos-Ayres.

- MELNOTTE (P.). — Les acquisitions récentes du diagnostic bactériologique de la diphtérie. *Revue d'hygiène*. 1938-(10)-dx.
- PERGOLA (M.). — Méthode de recherche du bacille diphtérique. *Annali d'Igiene*. 1922. In *Bulletin office intern. Hyg. Publique*, 1923-(1)-xv.
- PERGOLA (M.). — *Nuovo metodo per la riserca e la dimostrazione del bacillo difterico*. 1926. Roma.
- PERGOLA (M.). — Mise en évidence du bacille diphtérique par le milieu œuf-sérum-tellure et la coloration réduite. *Boll. del. sez. Italiana Soc. intern. di Microbiologia*. 1929-(10)-1-217.
- SCHEURLÉN. — Die Verwendung der selenigen säure in der bakteriologie. *Zeitschr. für Hyg. und Infektionkr.* 1900-xxxiii-135.
- SIERAKOWSKI (S.). — *Comptes Rendus Soc. Biol.* 1924-xc-599.
- SOLE (A.). — *Wien. Klin. Wochenschr.* 1934-(1)-xxxvii-713.
- SORDELLI (A.), RUGIERO (H.), MANZULLO (A.), HERRAN (J.), PENNIMPEDE (F.). — Estudios sobre difteria. *Revista del Inst. Bacteriologico*. 1941-(3)-x. Buenos-Ayres.
- TEMPE (G.). — Culture du bacille diphtérique sur milieu au tellurite de potassium. *Comptes Rendus Soc. Biol.* 1930, p. 1339.
- TEMPE (G.). — Le diagnostic bactériologique rapide de la diphtérie. *Comptes Rendus Soc. Biol.* 1930, p. 1341.
- TOPLEY et WILSON. — *Principles of Bacteriology and Immunity*. 1936, 2^e édition, London.

(I-II) Nous n'avons pu trouver ces deux articles, malgré toutes les recherches entreprises dans les Universités de Paris, Marseille, Lyon, Toulouse, Clermont-Ferrand, Grenoble et Montpellier.

S E R M E N T

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

En ma qualité de Censeur de tour
j'ai lu la Thèse ayant pour titre :

*Le diagnostic rapide de la diph-
térie par la méthode de Manzullo*

par **Henry GALERNE.**

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression :

Montpellier le 17 avril 1943

Le Professeur,
LISBONNE.

Vu :

Montpellier, le 21 avril 1943.

Le Doyen,
GIRAUD.

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 22 avril 1943.

Le Recteur,
SARRAILH.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises
dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées
comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approba-
tion, ni improbation.

